転写・翻訳実験キット
「遺伝情報からタンパク質を合成」
-試験管内での転写と翻訳の再現実験-

取扱説明書

(Catalog No. CFS-EDU)

株式会社セルフリーサイエンス

1. はじめに

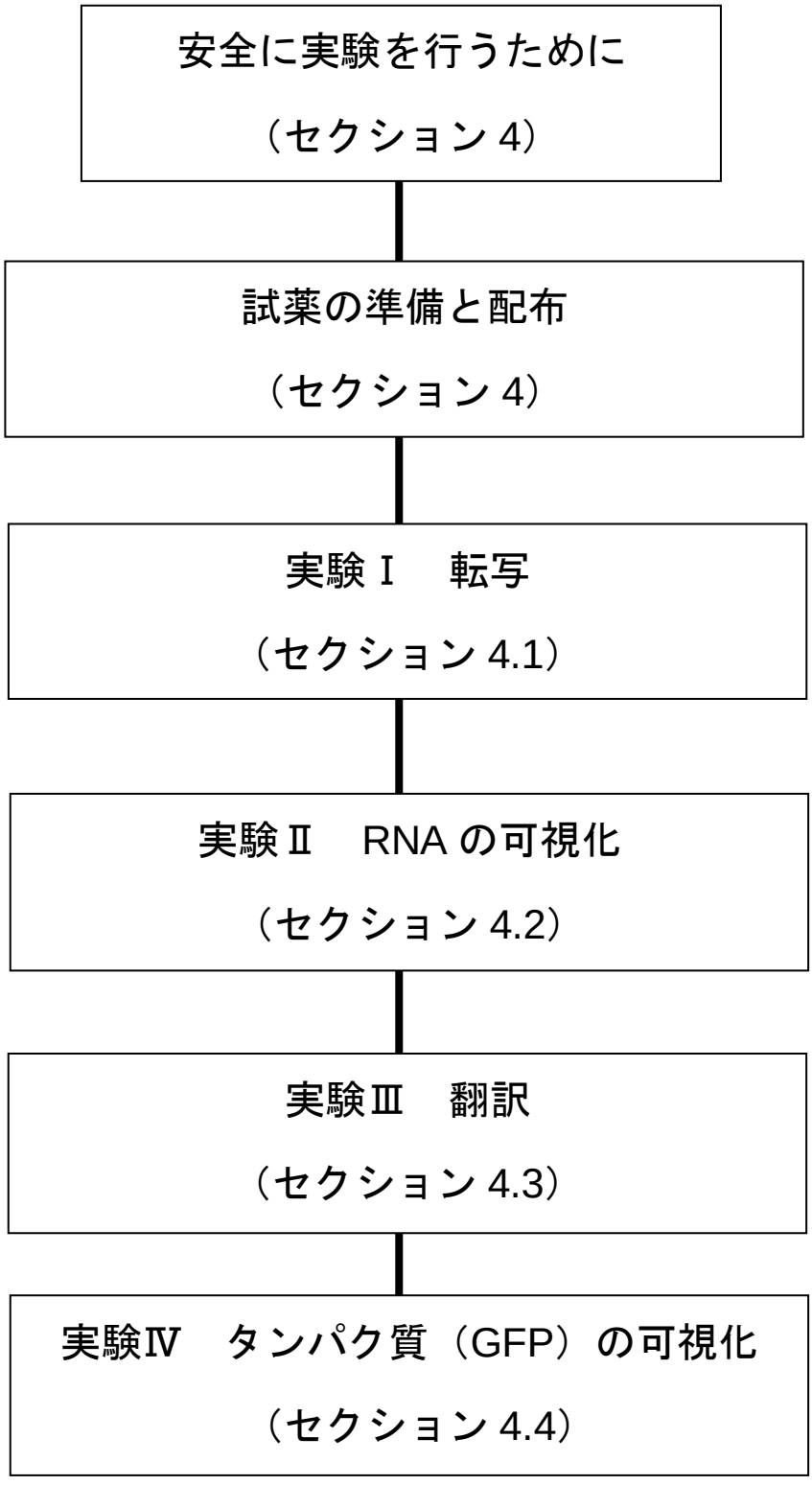
「**遺伝情報からタンパク質を合成**」は，コムギ胚芽の抽出液を材料としたタンパク質合成法※を用いることで，形質転換実験を行うこと無しに，緑色蛍光タンパク質（GFP）の生成を確認することが出来る試薬キットです。

「**遺伝情報からタンパク質を合成**」を用いることで，遺伝情報の発現の流れである，「DNA から mRNA が転写され，その mRNA からタンパク質が合成されること」を可視化し，生命のセントラルドグマについて理解を深めることが出来ます。

※コムギ胚芽無細胞タンパク質合成技術：
遠藤弥重太らにより開発された技術であり，タンパク質合成阻害物質を除去したコムギ胚芽抽出液に，アミノ酸などの基質と目的 mRNA を加えるだけで，天然に存在するタンパク質はもとより人工タンパク質に至るまで安定して高効率にタンパク質を合成することが可能です。

本実験は遺伝子組換え生物の作製を行わないことから，「生物の多様性に関する条約のバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書（カルタヘナ議定書）」およびその日本国内法規である「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律（カルタヘナ法）」の規制対象外です。

2. プロトコルの概要

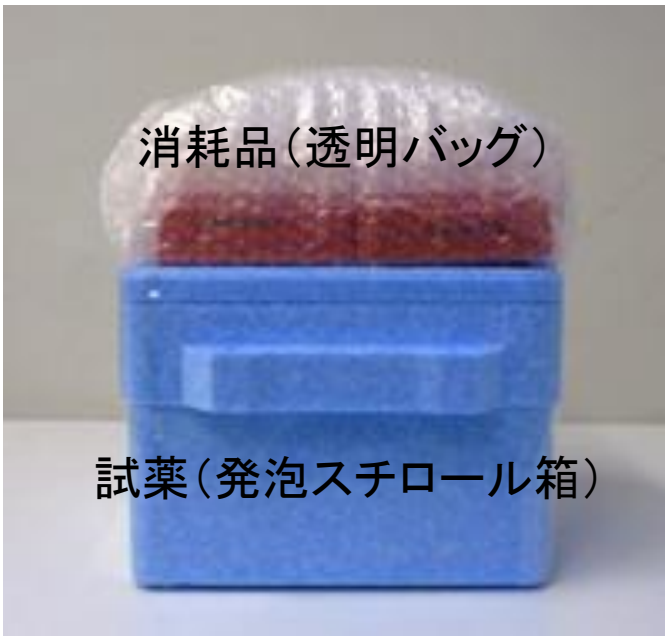

安全に実験を行うために
（セクション 4）
試薬の準備と配布
（セクション 4）
実験Ⅰ　転写
（セクション 4.1）
実験Ⅱ　RNA の可視化
（セクション 4.2）
実験Ⅲ　翻訳
（セクション 4.3）
実験Ⅳ　タンパク質（GFP）の可視化
（セクション 4.4）

3. 材料

3.1 「遺伝情報からタンパク質を合成」の内容

このキットは試薬（発泡スチロール箱）と消耗品（透明バッグ）に分かれています。
このキットには 10 班分の実験に必要な試薬／消耗品が含まれています。

輸送形態



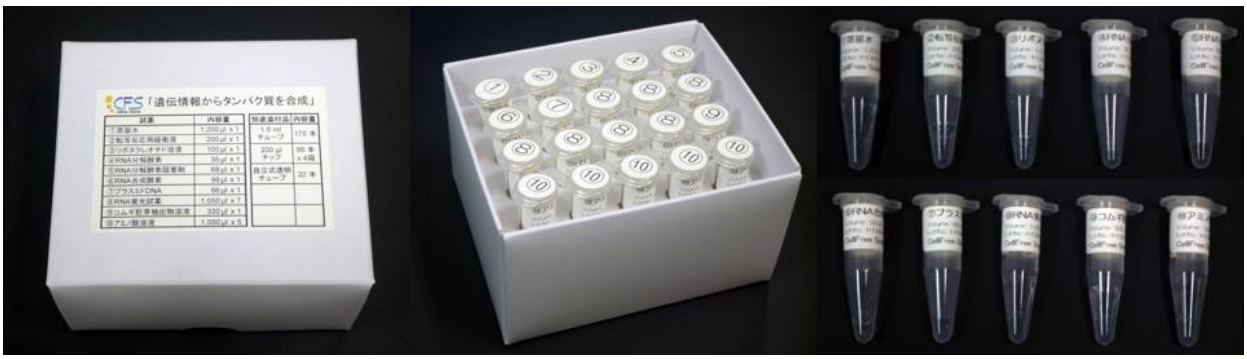
内容物

試薬（発泡スチロール箱） 消耗品（透明バッグ）

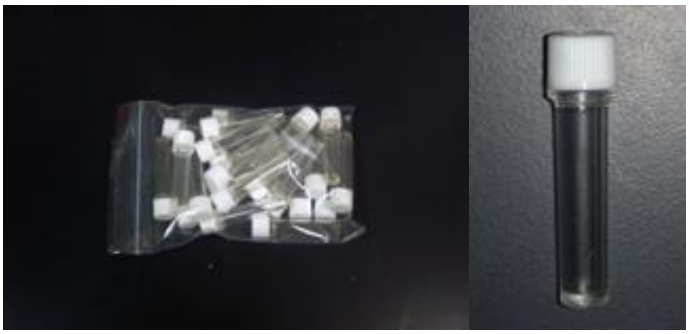
試薬（発泡スチロール箱に在中）

試薬名	容器の形状	内包数	量	説明	実験
①蒸留水	マイクロチューブ	1	1,200 µL	試薬の希釈に使用します。	Ⅰ～Ⅲ
②転写反応用緩衝液	マイクロチューブ	1	200 µL	転写反応に用いる緩衝液です。	Ⅰ
③リボヌクレオチド溶液	マイクロチューブ	1	100 µL	RNA の元になる基質です。	Ⅰ
④10mg/mL RNA 分解酵素	マイクロチューブ	1	35 µL	RNA を分解する酵素です。	Ⅰ
⑤10,000 unit/mL RNA 分解酵素阻害剤	マイクロチューブ	1	68 µL	RNA 分解酵素を阻害する試薬です。	Ⅰ
⑥10,000 unit/mL RNA 合成酵素	マイクロチューブ	1	99 µL	RNA を合成する酵素です。	Ⅰ
⑦1 mg/mL プラスミド DNA	マイクロチューブ	1	66 µL	RNA を作るための鋳型 DNA です。	Ⅰ
⑧RNA 蛍光試薬 ※	マイクロチューブ	7	1,050 µL	RNA を可視化させるための試薬です。	Ⅱ
⑨コムギ胚芽抽出液	マイクロチューブ	1	330 µL	タンパク質を合成する試薬です。	Ⅲ
⑩アミノ酸溶液	マイクロチューブ	5	1,050 µL	タンパク質の元になる基質です。	Ⅲ

※：本試薬はライフテクノロジーズ社（米国）からの実施許諾（ライセンス）に基づき下記の製品を使用して調製されたものです。製品名及びカタログ番号：Quant-iT™ RiboGreen® RNA Reagent (R11491)



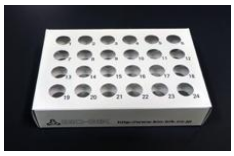
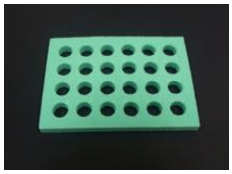
消耗品（透明バッグに在中）

消耗品名	内包数	説明	実験
マイクロチューブ （1.5 mL）	170 本	試薬の希釈／分注／混合に使用します。 	Ⅰ～ Ⅲ
チップ （2～200 µL 用）	96 本 x 4 箱	試薬の撹拌／希釈／分注／混合に使用します。 （赤い台を下にして開封して下さい） 	Ⅰ～ Ⅲ
バイアル瓶 （自立式透明チューブ）	22 本	翻訳時に反応液を二層化させる容器です。 	Ⅲ

3.2　「遺伝情報からタンパク質を合成」の保存条件について

全ての試薬は到着日もしくは到着翌日に解凍し，速やかに使用して下さい。
解凍した試薬は氷中での冷蔵保存をお願いします。
消耗品は常温で保存が可能です。

3.3　キット内包物以外に準備が必要な器具について

器具名	必要数	説明	実験
マイクロピペット	班数	試薬を調製するために用います。 200 µL 用，20 µL 用をそれぞれ必要とします。	Ⅰ～Ⅲ
インキュベーター	1 台	37℃で転写反応を行うために用います。	Ⅰ
チューブ立て	11 個	試薬の入ったマイクロチューブ，バイアル瓶を保持します。 	Ⅰ～Ⅲ
フローター	2 個	インキュベーターとしてウォーターバスを使うとき，試薬の入ったマイクロチューブを浮かばせるのに使用します。 	Ⅰ
青色 LED ライト	11 個	RNA の生成を確認するために用います。	Ⅱ
オレンジフィルター	11 個	RNA の生成を確認するために用います。	Ⅱ
UV - LED ライト	11 個	GFP の生成（蛍光）を確認するために用います。	Ⅳ

器具は弊社でも販売を行っております（チューブ立て，フローター，青色 LED ライト，オレンジフィルター，UV - LED ライトの 10 班セット品）。
ご入り用の際はお問い合わせ下さい。

マイクロピペットの貸し出しを希望する場合は，下記までご相談下さい。
高崎健康福祉大学 人間発達学部　片山豪　　katayama@takasaki-u.ac.jp

4. プロトコル

安全に実験を行うために

実験室では飲食せず、清潔な服装（できれば白衣着用）でお願いします。実験の前後には石鹸で十分手を洗って下さい。特に危険な試薬は使用しませんが、もし実験中に試薬が目に入ったり、皮膚に付いた場合には速やかに十分量の水道水で洗浄して下さい。

試薬の準備と配布

解凍した試薬は，まずそれぞれのチューブ内液をゆっくりピペッティング（マイクロピペットで軽く吸ったり吐いたりして，泡立てず，穏やかに溶液を撹拌すること）して下さい。⑤⑥⑨の試薬は粘性が強いので特に丁寧にピペッティングを行って下さい。
次に，下記説明通りに試薬の分注をゆっくりと丁寧に行って下さい。
・分注前に予め分注用マイクロチューブに油性ペンで番号を書く。
・分注後は冷蔵庫あるいは氷中にて保存することが望ましい。

①蒸留水；
100 µL ずつマイクロチューブ（10 本）に分注し，各班に 1 本配布する。
②転写反応用緩衝液；
15 µL ずつマイクロチューブ（10 本）に分注し，各班に 1 本配布する。
③リボヌクレオチド溶液；
15 µL ずつマイクロチューブ（5 本）に分注し，２班に 1 本配布する。
④10mg/mL RNA 分解酵素；
5 µL ずつマイクロチューブ（5 本）に分注し，２班に 1 本配布する。
⑤10,000 unit/mL RNA 分解酵素阻害剤；
10 µL ずつマイクロチューブ（5 本）に分注し，２班に 1 本配布する。
⑥10,000 unit/mL RNA 合成酵素；
15 µL ずつマイクロチューブ（5 本）に分注し，２班に 1 本配布する。
⑦1 mg/mL プラスミド DNA；
10 µL ずつマイクロチューブ（5 本）に分注し，２班に 1 本配布する。
⑧RNA 蛍光試薬；
198 µL ずつマイクロチューブ（30 本）に分注し，各班に 3 本配布する。
⑨コムギ胚芽抽出液；
25 µL ずつマイクロチューブ（10 本）に分注し，各班に 1 本配布する。
（コムギ胚芽抽出物溶液には予め Creatine Kinase が加えられている）
⑩アミノ酸溶液；
200 µL ずつバイアル瓶（20 本）に分注し，各班に 2 本配布する。

4.1　実験Ⅰ　転写

方法

1）マイクロチューブを３本（A，B，C を油性ペンで記入）用意し，
　　下表のように溶液を混合する。
2）37℃で４時間，インキュベーターで反応させる。

溶液	A	B	C
①蒸留水	8　μL	8　μL	10　μL
②転写反応用緩衝液	4　μL	4　μL	4　μL
③リボヌクレオチド溶液	2　μL	2　μL	2　μL
④10 mg/mL RNA 分解酵素	0　μL	2　μL	0　μL
⑤10,000 unit/mL RNA 分解酵素阻害剤	2　μL	0　μL	2　μL
⑥10,000 unit/mL RNA 合成酵素	2　μL	2　μL	2　μL
⑦1 mg/mL プラスミド DNA	2　μL	2　μL	0　μL
計	20　μL	20　μL	20　μL

試薬の分注 / 混合はマイクロピペットをゆっくりと操作し，泡立てず，穏やかにピペッティングを行って下さい。⑤⑥の試薬は粘性が強くまた 2 μL は非常に微量ですので，ゆっくり吸引し，マイクロチューブに丁寧に注ぎ込んでください。

4.2　実験Ⅱ　RNA の可視化

方法

1）⑧RNA 蛍光試薬 198 μL が入ったマイクロチューブ３本（A''，B''，C'' を油性ペンで記入）に，実験Ⅰの A ～ C の反応液をそれぞれ 2 μL ずつ加え，よく混合する。
2）暗所で A''，B''，C'' に青色 LED の光を当て，オレンジフィルターを透して観察する。RNA が合成されていれば強く蛍光する。

試薬の分注 / 混合はマイクロピペットをゆっくりと操作し，泡立てず，穏やかにピペッティングを行って下さい。実験Ⅰの A ～ C の反応液 2 μL は非常に微量ですので，ゆっくり吸引し，マイクロチューブに丁寧に注ぎ込んでください。

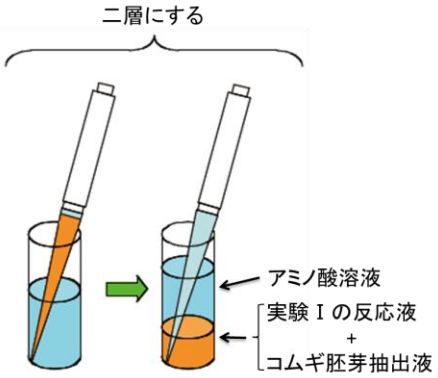
4.3　実験Ⅲ　翻訳

方法

1）マイクロチューブ２本（A‴，C‴を油性ペンで記入）に⑨コムギ胚芽抽出液 10 µL を分注し，実験Ⅰの反応液 A，C 10 µL をそれぞれに加えて，穏やかに混合する。

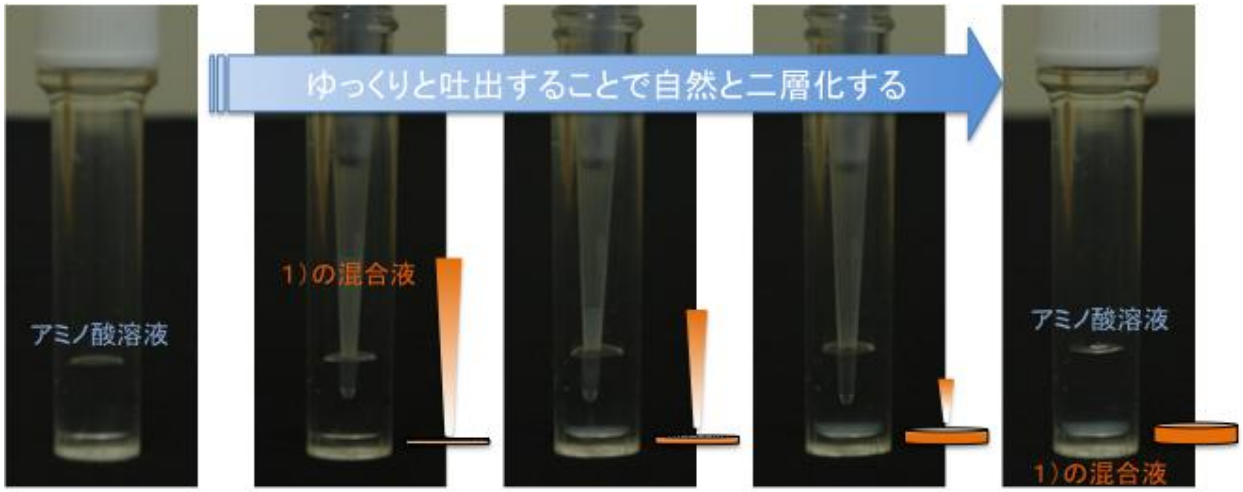
2）⑩アミノ酸溶液 200 µL が入ったバイアル瓶２本の蓋と容器上部それぞれに A‴，C‴を油性ペンで記入する。

3）１）の溶液 A‴と溶液 C‴をそれぞれ ２）のバイアル瓶下部からゆっくり加え，混ぜないように二層にする（右図）。



4）蓋を閉め，常温で１～３時間反応させる（翌日まで反応させることも可）。

試薬の分注 / 混合はマイクロピペットをゆっくりと操作し，泡立てず，穏やかにピペッティングを行って下さい。3）の操作ではチップをバイアル瓶の底に付けず，ゆっくりと（およそ 10 秒程度かけて）チップ内液を注ぎ込むと自然と二層になります。その後，ゆっくりとチップを引き上げて下さい。



4.4　実験Ⅳ　タンパク質（GFP）の可視化

方法

1）実験Ⅲの自立式透明チューブにブラックライトを横から当て観察する。タンパク質（GFP）が合成されていれば緑色に蛍光する。

5. ラベルライセンスポリシーについて

「遺伝情報からタンパク質を合成」をご購入のお客様は，セクション 3.1 にリストされている試薬のうち，いずれか 1 つの容器キャップを開封した時点で以下のラベルライセンスポリシーの条件を遵守する事に同意したものといたします。

<< ラベルライセンスポリシー>>
本製品は，コムギ胚芽抽出液（作製法）やタンパク質合成方法等に関する日本，米国その他の国において登録された特許（特許 3753358、特許 3768190 など）により保護されております。

お客様は，本製品，本製品の内容物を，お客様の監督のもとで教育目的にのみ使うことができる権利を有します。この権利は譲渡できません。お客様は，本製品，本製品の内容物およびこれらを使うことにより得られた物質を第三者に譲渡，販売したり，研究および商業目的で使ったりすることはできません。

6. その他

製品の仕様は，事前の予告なしに変更される場合があります。

連絡先

営業部
E-mail: tech-sales-JP@cfsciences.com

株式会社セルフリーサイエンス

〒230-0046
神奈川県横浜市鶴見区小野町 75-1
リーディングベンチャープラザ 201 号
TEL：045-500-2119
FAX：045-500-2117
Web site: http://www.cfsciences.com/jp/index.html

参考文献

片山豪，林秀則，高井和幸，遠藤弥重太 (2012)，セントラルドグマを体感する高等学校生物実験の開発と実践 −コムギ胚芽無細胞タンパク質合成系を用いて転写，翻訳を可視化する−，生物教育, 52(4), 165-178.

本川達雄 他 (2012)，文部科学省検定済教科書 高等学校理科用 『生物』，啓林館，123-126.

遠藤弥重太, 高井和幸, 澤崎達也 (2008)，コムギ胚芽由来無細胞タンパク質合成系，タンパク質をつくる，化学同人, 141-148.

遠藤弥重太，澤崎達也 (2007)， コムギ無細胞タンパク質合成法，生化学 第 79 巻 第 3 号, 229-238.

©2013 CellFree Sciences Co., Ltd. All rights reserved.